

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-285814

(43) 公開日 平成8年(1996)11月1日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 27/416			G 0 1 N 27/46	3 0 1 Z
27/28	3 3 1		27/28	3 3 1 Z
27/327			27/30	3 5 3 J
				3 5 3 R
			27/46	3 3 6 Z
審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 5 頁)				

(21) 出願番号 特願平7-112593

(22) 出願日 平成7年(1995)4月14日

(71) 出願人 000001443

カシオ計算機株式会社

東京都新宿区西新宿2丁目6番1号

(72) 発明者 当山 忠久

東京都八王子市石川町2951番地の5 カシ

オ計算機株式会社八王子研究所内

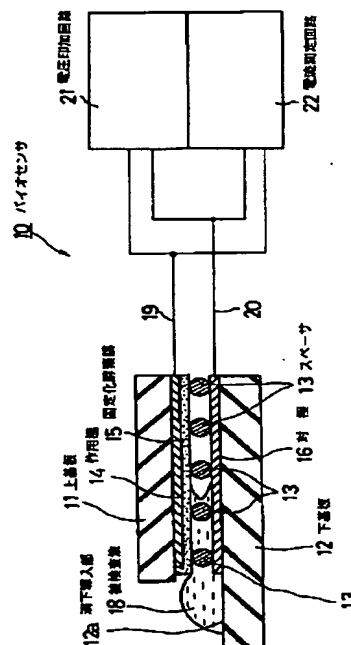
(74) 代理人 弁理士 杉村 次郎

(54) 【発明の名称】 バイオセンサ

(57) 【要約】

【目的】 微量の被検査液で測定ができ、しかも小型なバイオセンサを提供する。

【構成】 対向する上基板11と下基板12との対向内側面に、作用極14と、対極16を設け、作用極14の表面に固定化酵素膜15を形成する。固定化酵素膜15と対極16との間にスペーサ13を分散させて介在させて、両極の間隔を均一にし、両極はシール材で保持されている。下基板12には、対向部分より側方に延在された滴下導入部12aが形成されている。このような構成により、両基板を平面的に見て重ねたコンパクトな構造とすることができる。また、その電極間に染み込ませる被検査液18は微量でよく、滴下導入部12aに滴下するだけでよいため、確実に容易な測定を可能にする。



1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 相対向する一対の電極のうち一方の電極の対向内側面に、酵素、あるいは酵素とメディエータとが固定化され、かつ前記一対の電極どうしの間隔をスペースにより保持されることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 2】 前記一対の電極のうち一つの電極側に、側方近傍に延在された被検査液の滴下導入部が形成されていることを特徴とする請求項 1 記載のバイオセンサ。

【請求項 3】 前記一対の電極は、少なくとも前記滴下導入部に臨む部分を除いた部分でシール材を介して接合されていることを特徴とする請求項 2 記載のバイオセンサ。

【請求項 4】 前記一対の電極間に電圧を印加するための電圧印加回路と、前記電極間に流れる電流を検出するための電流検出回路と、を備えることを特徴とする請求項 1 記載のバイオセンサ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】この発明は、バイオセンサに関し、さらに詳しくは、各種液体の成分濃度を、固定化した酵素などを利用して検出する、臨床検査や水質検査などに用いられる酵素センサに係る。

【0002】

【従来の技術】従来、固定化した酵素を用いたバイオセンサの一つとしては、図 3 (A) および (B) に示すものが知られている。図 3 (A) は平面図であり、図 3 (B) は図 3 (A) の a-b 断面図である。このバイオセンサは、基板 1 の一側表面上に作用極 2 と対極 3 とが共に設けられている。対極 3 は、略コ字状の平面形状であり、矩形状の作用極 2 の三辺に対して所定距離だけ隔てて形成されている。また、作用極 2 の表面には、例えばグルコース酸化酵素（グルコースオキシダーゼ）を固定化した固定化酵素膜 4 が被着されている。このような構成のバイオセンサは、図 3 (B) に示すように、被検査液（例えば血液、尿など）5 を作用極 2 と対極 3 とに跨るように滴下することにより、その測定が可能となる。そして、このバイオセンサは、グルコース酸化酵素の触媒作用により、基質（酵素の作用を受けて変化する物質）であるグルコースが酸化されるときに消費される酸素の減少、またはこのとき生成される過酸化水素の増大を電流測定することにより、グルコース濃度を測定することができるようになっている。

【0003】また、他のバイオセンサとしては、図 4 に示すような構成のものが知られている。このバイオセンサは、絶縁基板 6 の一側表面に作用極 7 が設けられ、その他側表面对極 8 が設けられている。そして、作用極 7 の表面には、固定化酵素膜 9 が被着されている。このような構成のバイオセンサは、被検査液の中にセンサ自体を浸して両電極間に被検査液が存在するようにして検査を行っている。このバイオセンサにおいても、グルコ

2

ース酸化酵素の触媒作用により、グルコースが酸化されるときに消費される酸素の減少、またはこのとき生成される過酸化水素の増大を電流測定することにより、グルコース濃度を測定することができるようになっている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、上記した従来のバイオセンサのうちの前者にあつては、基板 1 の一側表面上に作用極 4 と対極 3 とが平面的に重なり合わないよう配置されているため、これら電極が基板 1 の一側表面で占有する面積は必然的に大きいものであった。このため、バイオセンサの小型化が図りにくいものであった。一方、後者では、作用極 7 と対極 8 とが絶縁基板 6 を挟んで対向するように形成することにより、平面的にみて重なり合わせることができるため小型化を図ることは可能である。しかし、絶縁基板 6 により電極どうしが隔てられているため、バイオセンサを被検査液に浸けて両電極が被検査液に接触するようにしなければならず、このためには相当量の被検査液が必要となる。このように、後者では、被検査液の微量測定ができないという問題点があった。

【0005】この発明が解決しようとする課題は、小型化を図ることができると共に、被検査液が微量でも測定できるバイオセンサを得るにはどのような手段を講じればよいかという点にある。

【0006】

【課題を解決するための手段】請求項 1 記載の発明は、相対向する一対の電極のうち一方の電極の対向内側面に、酵素、あるいは酵素とメディエータとが固定化され、かつ前記一対の電極どうしの間隔をスペースにより保持されることを特徴としている。

【0007】請求項 2 記載の発明は、前記一対の電極のうち一つの電極側に、側方近傍に延在された被検査液の滴下導入部が形成されていることを特徴としている。請求項 3 記載の発明は、前記一対の電極は、少なくとも前記滴下導入部に臨む部分を除いた部分でシール材を介して接合されていることを特徴としている。

【0008】請求項 4 記載の発明は、前記一対の電極間に電圧を印加するための電圧印加回路と、前記電極間に流れる電流を検出するための電流検出回路と、を備えることを特徴としている。

【0009】

【作用】請求項 1 記載の発明においては、相対向する一対の電極間にスペースが介在されているため、両電極間に所定の間隔を設けることができ、このため両電極間の間隙に被検査液を注入させることができるので迅速に測定することができる。また、両電極の間隔を狭くすれば被検査液が微量であっても毛細管現象により確実に両電極間に浸入し、検出されることができる。このように、両電極を対向させ、しかもその間隔を狭くすることにより、センサ本体の小型化にでき被検査液が微量であつて

も十分かつ迅速に検出することができる。また、両電極間の間隔を均一に保持することにより、微量の被検査液でも電極間全体にわたって均一な電界を形成することができ高精度な定量分析が行える。

【0010】請求項2記載の発明においては、一つの電極側に側方近傍に延在するように形成された滴下導入部に被検査液が滴下されると、被検査液が両電極間にすみやかに浸入して両電極に接触する。このため、センサ自体を大量の被検査液に浸ける必要がなく、滴下できる程度の微量での測定が可能となる。

【0011】請求項3記載の発明においては、両電極間にスペーサを散布しているため、シール材を用いて容易に両基板を所定間隔に対向して接合することができる。このとき、被検査液を滴下する滴下導入部に臨む部分以外をシール材で接合するため、このシール材が被検査液の両電極間への浸入を妨げることがない。

【0012】請求項4記載の発明においては、電極間に電圧を印加するための電圧印加回路と、前記電極間に流れる電流を検出するための電流検出回路と、を備えることにより、一方の電極に固定化された酵素の触媒作用により、例えば基質が酸化されるときに消費される酸素の減少や、またはこのとき生成される過酸化水素の増大などを電流測定することにより、被検査液中の基質濃度を測定することが可能となる。酸素は一方の電極表面で電気化学還元され、過酸化水素は電気化学酸化される。この性質を利用して、例えば一方の電極の電位を所定の電位になるように電圧印加回路を制御すると酸素は電気化学還元され、また酸素以外に電極で反応する物質がない状態では、電流検出回路で検出される電流値は被検査液中の酸素分圧に比例する。このようにして、酸素の消費量が判明するため、酵素によって酸化される基質の濃度が測定できる。なお、過酸化水素の増大をみる場合、過酸化水素は電気化学酸化されるため、設定する電位の極性が酸素の減少をみる場合と逆となるが測定原理は酸素をみる場合と同様である。また、一方の電極に酵素とメディエータとが固定化されている場合は、一対の電極間に電圧印加回路で所定の電位を印加し、電流検出回路で直接酵素からの電子移動を測ることができる。これにより、被検査液中の基質の濃度を測定することができる。

【0013】

【実施例】以下、この発明の実施例を図面に基づいて詳細に説明する。図1はこの発明に係るバイオセンサの実施例を示す断面説明図、図2(A)はバイオセンサの平面図、図2(B)は同図(A)のc-d断面図を示している。図中10は、本実施例のバイオセンサを示している。このバイオセンサ10は、上基板11と下基板12とを対向させ、両基板11、12の相対向する面にそれぞれ電極が設けられている。下基板12は上基板11と幅がほぼ等しく、長さが上基板11より長く設定されている。そして、両基板11、12は長さ方向の一端縁ど

うしが揃い、他端縁側で下基板12のほうが側方近傍に延在するように配置されている。この下基板12の延在した部分の上面は、被検査液の滴下導入部12aとなっている。

【0014】上基板11の対向内側面に設けられた電極は、例えば真空蒸着法、マグネツトスパッタリング法、スクリーン印刷法などの周知の方法で形成された作用極14であり、この作用極14の表面には固定化酵素膜15が設けられている。なお、この固定化酵素15は、グルコース酸化酵素を高分子膜に例えば架橋法や包括法などの周知の方法で固定化してなる。一方、下基板12の対向内側面に設けられた電極は、上基板11の作用極14と対向する対極16であり、作用極14と同様の方法で形成されている。また、上基板11に設けられた固定化酵素膜15と下基板12に設けられた対極16との間には、複数の、例えば電気絶縁性を有する樹脂でなる、球状のスペーサ13が分散されて介在されている。このため、上基板11と下基板12との間には、均一な間隔が形成されている。また、固定化酵素膜15と対極16との間の距離は、滴下導入部12aに滴下された被検査液が毛細管現象により、固定化酵素膜15と対極16との間に導入され得るような距離に設定されている。この距離は、スペーサ13の径寸法により決定することができる。そして、上基板11と下基板12とは、図2

(A)、(B)に示すように、両側部でシール材17により互いに固定されている。

【0015】また、図1に示すように、作用極14と対極16とは、配線19、20を介して電圧印加回路21および電流測定回路22が接続されている。

【0016】本実施例では、上記の構成としたことにより、図1に示すように、下基板12に滴下導入部12aに被検査液18を滴下すると、被検査液18が固定化酵素膜15と対極16との間に毛細管現象により速やかに導入されるという作用をもつ。このように、作用極14と対極16との間に被検査液18が介在された状態で、グルコース濃度の測定が可能となる。

【0017】すなわち、グルコースを含む、例えば血液、尿、だ液などの微量の被検査液18を下基板12の滴下導入部12aに滴下する。そして、被検査液18が固定化酵素膜15と対極16との間に浸透すると、被検査液18中のグルコースが、固定化酵素膜15中に固定化されているグルコース酸化酵素によって酸化され、一方グルコース酸化酵素自体は還元されて還元型となる。このとき、被検査液18中に酸素が存在していれば、酸素が電子受容体となり、還元型となっているグルコース酸化酵素は元の酸化型に戻る。

【0018】また、このようなグルコースの酸化反応と同時に過酸化水素が生成される。このとき、電圧印加回路21により、作用極14と対極16との間に所定の電圧が印加されていると、生成した過酸化水素が還元さ

れ、これにより作用極14と対極16との間に過酸化水素の還元電流が流れる。この還元電流は、電流測定回路22で測定することができる。この還元電流の大きさは、生成する過酸化水素量に依存している。したがって、過酸化水素の生成量が被検査液18中のグルコース濃度に依存していることから、還元電流の大きさを測定することにより、被検査液18中のグルコース濃度を決定することができる。すなわち、このときの電流の時間変化は、被検査液18中の基質であるグルコース濃度に依存して既知の関数に乗る。このため、電流変化を検出すれば基質濃度を測定することが可能となる。

【0019】以上、実施例について説明したが、この発明はこれに限定されるものではなく、構成の要旨に付随する各種の設計変更が可能である。上記実施例では、作用極14に固定化する酵素をグルコース酸化酵素とすることにより、バイオセンサをグルコース濃度の測定に供されるものとしたが、これに限定されるものではなく、その触媒作用により基質（測定対象）を酸化する酵素を作用極に固定化し、基質を酸化することにより発生する過酸化水素を検出することにより、その基質測定用のバイオセンサに適用することができる。例えば、固定化酵素としてアルコール酸化酵素であるアルコールオキシダーゼを用いれば、アルコール濃度測定用のバイオセンサとすることができる。また、固定化される酵素がコレステロール酸化酵素であるコレステロールオキシダーゼを用いれば、コレステロール測定用のバイオセンサとすることができる。

【0020】また、上記実施例では、作用極14の表面に酵素のみを固定したが、これに加えてメディエータを共存させれば、基質を酸化させて還元型に変化した酵素が元の酸化型に戻る際に、メディエータが酵素から電子を奪い還元型メディエータとなる。そして、この還元型メディエータが電極反応によって電極に電子を与え、これにより元の酸化型に戻る。すなわち、酵素とメディエータとを含む基質が作用極表面に存在すれば、酵素とメディエータとを仲介して電子が電極へ移動し、基質濃度に応じた電流が流れる。したがって、この電流を検出すれば基質濃度を測定することができる。

【0021】また、作用極14、対極16は基質と酵素との間等に行われる化学反応に応じて一方をアノード電極、他方をカソード電極として設定すればよい。さら

*に、上記実施例では、滴下導入部12aを下基板12側に設けたが、対極16を作用極14より長くして、対極16自体に滴下導入部を形成しても勿論よい。

【0022】またさらに、上記実施例では、絶縁性の樹脂からなるスペーサ13を球状の粒子としたが、絶縁性であればガラス等の無機材料からなるものでもよい。さらに所定の径寸法を有する円柱状の粒子としてもよく、また、作用極と対極との間の距離を均一に保てるものであれば他の形状でもよい。

10 【0023】

【発明の効果】以上の説明から明らかなように、この発明によれば、相対向する電極を平面的に見て重ねた配置とすることができると共に、電極間を狭くできるため、バイオセンサの小型化及び測定の迅速化を図ることができる。特に、スペーサの径寸法を、電極間に被検査液が毛細管現象により染み込む程度に小さくできるため、バイオセンサの薄型化を図れるという効果がある。また、狭い電極間に被検査液が浸入するだけでよいため、測定に用いる被検査液の量が微量でよいという効果がある。さらに、滴下導入部が形成されているため、被検査液を容易かつ確実に供給することが可能となり、使い易いバイオセンサを実現する効果がある。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施例のバイオセンサを示す断面説明図。

【図2】(A)は本実施例のバイオセンサの平面図、

(B)は図2(A)のc-d断面図。

【図3】(A)従来のバイオセンサを示す平面図、

(B)は図3(A)のa-b断面図。

30 【図4】他の従来例を示す断面図。

【符号の説明】

10 バイオセンサ

13 スペーサ

14 作用極

15 固定化酵素膜

16 対極

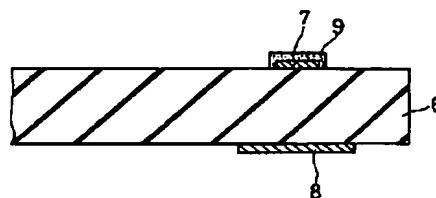
17 シール材

18 被検査液

21 電圧印加回路

40 22 電流測定回路

【図4】



The diagram illustrates a biological sensor system. It features a substrate assembly consisting of a top plate (11) and a bottom plate (12) held apart by spacers (13). Between the plates is a porous medium (14) containing a fixed enzyme layer (15). A sample inlet (12a) allows fluid to enter the channel. A flow path (19) leads from the channel to a detection unit (10). This unit includes a voltage application circuit (21) and a current measurement circuit (22).

Figure 1 consists of two diagrams. Diagram (A) is a plan view of a semiconductor device. It shows a rectangular substrate 1 with a central square region 2. A dashed line indicates the boundary of region 2. A solid line 3 represents a layer or structure surrounding region 2. A solid line 4 represents a layer or structure surrounding region 3. Diagram (B) is a cross-sectional view of the device. It shows a substrate 1 with a central region 2. A layer 3 is deposited on the substrate 1. A layer 4 is deposited on the layer 3. A layer 5 is deposited on the layer 4. The layers 3, 4, and 5 are shown in cross-section, with 3 being the bottom layer, 4 in the middle, and 5 on top. The substrate 1 is shown with diagonal hatching.